

L1 ANSWER 1 OF 1 WPINDEX COPYRIGHT 2006 THE THOMSON CORP on STN
AN 2001-331612 [35] WPINDEX
DNC C2001-102411
TI Drug formulation as feed, food stuff and cosmetics for stimulating
immunofunction, contains ascorbic acid and other immuno potentiating
substance.
DC B03 D13 D21 E13
PA (TAKE-N) TAKEDA SHOKUHIN KOGYO KK
CYC 1
PI JP 2001064174 A 20010313 (200135)* 7 A61K031-375 <--
ADT JP 2001064174 A JP 1999-235431 19990823
PRAI JP 1999-235431 19990823
IC ICM A61K031-375
ICS A61K031-7016; A61K031-702; A61K035-74; A61K045-00; A61P037-02;
A61P037-04
ICA C07H003-04; C07H003-06
AB JP2001064174 A UPAB: 20010625

NOVELTY - A drug formulation containing ascorbic acid and other immuno
potentiating substance, a quasi drug, food stuff, feed or cosmetics is
new.

ACTIVITY - Immunostimulant.

MECHANISM OF ACTION - IL-12 inducer; IFN- gamma production inducer
(claimed).

Formulation containing microbial cells of Lactobacillus plantarum
L-137 strain, nigeroligosaccharide and ascorbic acid was evaluated for
immunostimulant effect. Interleukin-12 from mice spleen cell was
cultivated in RPMI 1640 culture medium. The cell suspension was added with
10 multiply 10⁶ cells of lactic acid bacteria and 4 micro g/ml of
nigerooligosaccharide. The immunostimulant effect was measured by
immunoassay and was found to be 2.99 plus or minus 0.14 micro g/ml. The
result showed that lactic acid bacteria and ascorbic acid have synergistic
immunostimulant effect.

USE - As drug, quasi drug, feed, food stuff and cosmetics for
stimulating immunofunction.

ADVANTAGE - The formulation has excellent immunopotential
reinforcement effect.

Dwg.0/0

FS CPI

FA AB; DCN

MC CPI: B03-F; B04-F10B1; B07-A02B; B14-G01; B14-S09; D03-G02; D03-H01T2;
D08-B; E07-A02B; E07-A02H

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-64174

(P 2 0 0 1 - 6 4 1 7 4 A)

(43) 公開日 平成13年 3 月13日 (2001. 3. 13)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード (参考)
A61K 31/375		A61K 31/375	4C057
31/7016		31/7016	4C084
31/702		31/702	4C086
35/74		35/74	A 4C087
45/00		45/00	

審査請求 未請求 請求項の数11 O L (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平11-235431	(71) 出願人	000238511 武田食品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町 2 丁目 3 番 6 号
(22) 出願日	平成11年 8 月23日 (1999. 8. 23)	(72) 発明者	室崎 伸二 奈良県奈良市芝辻町三丁目 6 番27-208号
		(72) 発明者	室山 幸太郎 兵庫県西宮市上甲子園 1 丁目15番24-304号
		(72) 発明者	山本 憲朗 兵庫県神戸市東灘区住吉山手 3 丁目 9 番20号
		(74) 代理人	100062144 弁理士 青山 葆 (外 1 名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫賦活効果を相乗的に増強した製剤

(57) 【要約】

【課題】 免疫賦活効果に優れた医薬、食品、化粧品等の提供。

【解決手段】 アスコルビン酸と、他の免疫賦活物質を併用することにより、免疫賦活効果を相乗的に増強した医薬品、医薬部外品、食品、飼料または化粧品用の製剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 アスコルビン酸および他の免疫賦活物質を含有してなることを特徴とする医薬品、医薬部外品、食品、飼料または化粧料用製剤。

【請求項2】 他の免疫賦活物質が、乳酸菌またはその処理物である請求項1記載の製剤。

【請求項3】 乳酸菌が、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属に属する菌である請求項2記載の製剤。

【請求項4】 他の免疫賦活物質が、3-O- α -D-グルコピラノシル-D-グルコースを構成単位として含有する糖類である請求項1記載の製剤。

【請求項5】 他の免疫賦活物質が、乳酸菌またはその処理物と、3-O- α -D-グルコピラノシル-D-グルコースを構成単位として含有する糖類である請求項1記載の製剤。

【請求項6】 乳酸菌が、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属に属する菌である請求項5記載の製剤。

【請求項7】 糖類がニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖の混合物である請求項4~6いずれか1項記載の製剤。

【請求項8】 ラクトバチルス属に属する菌が、ラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) である請求項2~7いずれか1項記載の製剤。

【請求項9】 ラクトバチルス属に属する菌が、ラクトバチルス・プランタラム L-137 株 (*Lactobacillus plantarum* L-137) である請求項8記載の製剤。

【請求項10】 免疫増強用である請求項1~9のいずれか1項記載の製剤。

【請求項11】 IL-12 および/または IFN- γ 産生誘導作用である請求項10記載の製剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、免疫賦活効果を相乗的に増強した製剤、さらに詳しくは、相乗的に増強した免疫賦活作用により、優れた免疫増強、生体機能の調節、保健強壮効果を発揮する医薬品、医薬部外品、食品、飼料、化粧料として有用な製剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 従来から、免疫賦活作用を有する物質が種々知られており、アスコルビン酸も免疫賦活作用を有することが知られている (Int. J. Vitam. Nutr. Res. Suppl., 1982, 23:49-52; Am. J. Clin. Nutr., 1976, 29(7), 762-765等)。また、乳酸菌や、ニゲロオリゴ糖も、免疫賦活作用を有することが知られている (Can. J. Microbiol., 1992, 38:774-778; J. Allergy Clin. Immunol., 1998, 102:57-64; Biosci. Biotechnol. Biochem., 1999, 63:373-378等)。一方、これらの免疫賦活作用を有する物質を有効成分とする医薬品、食品等として有用な免疫増強剤や、生体機能調節剤が提案されている (特開平3-22958号、特開平9-30981

号、特開平9-52834号、特開平10-167972号等)。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は、より優れた免疫賦活作用を発揮する免疫増強剤や生体機能調節剤を提供することを目的とする。

【0004】

【課題を解決する手段】 本発明者らは、免疫賦活物質について種々研究した結果、アスコルビン酸と、他の免疫賦活物質、特に、乳酸菌やニゲロオリゴ糖を併用した場合、免疫賦活効果が相乗的に増強されることを見出した。アスコルビン酸とこれらを組み合わせた場合、免疫賦活効果が相乗的に増強されることは、未だ、報告されていない。本発明は、このような本発明者らの新規な知見に基づいて完成されたものであって、

【0005】 アスコルビン酸および他の免疫賦活物質を含有してなることを特徴とする医薬品、医薬部外品、食品、飼料または化粧料用製剤、特に、他の免疫賦活物質が、乳酸菌、とりわけ、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属に属する菌、それらの処理物、および3-O- α -D-グルコピラノシル-D-グルコースを構成単位として含有する糖類からなる群から選択される1種以上の免疫賦活物質である製剤を提供するものである。

【0006】

【発明の実施の形態】 本発明において用いるアスコルビン酸は、遊離のアスコルビン酸のみならず、例えば、そのナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ金属およびアルカリ土類金属塩、L-アスコルビン酸-2-リン酸エステルのような誘導体の1種または2種以上が使用できる。その製剤への配合量は、所望の免疫賦活作用により適宜選択できるが、経口剤の場合、吸収率を考慮して、遊離のアスコルビン酸として、成人1日当り、10mg~10g、好ましくは、50mg~5g、さらに好ましくは、200mg~2g 摂取されるよう設定するのが望ましい。すなわち、通常、その製剤への配合量は、1日摂取量の目安が4gの錠剤の場合、製剤に対して遊離のアスコルビン酸として、0.25~95重量%、好ましくは、1.25~95重量%、さらに好ましくは、5~50重量%であり、50ml程度のドリンク剤の場合、製剤に対して遊離のアスコルビン酸として、0.02~20重量%、好ましくは、0.1~10重量%、さらに好ましくは、0.4~4重量%であり、500ml程度の飲料の場合、製剤に対して遊離のアスコルビン酸として、0.002~2重量%、好ましくは、0.01~1重量%、さらに好ましくは、0.04~0.4重量%である。また、注射剤、輸液剤の場合は遊離のアスコルビン酸として、成人1日当り、5mg~5g、好ましくは、25mg~2.5g、さらに好ましくは、100mg~1g 投与されるよう設定するのが望ましい。すなわち、通常、5ml程度の注射剤

の場合、製剤に対して遊離のアスコルビン酸として、0.1~10重量%、好ましくは、0.5~10重量%、さらに好ましくは2~10重量%であり、500ml程度の輸液剤の場合、製剤に対して遊離のアスコルビン酸として、0.001~1重量%、好ましくは、0.005~0.5重量%、さらに好ましくは、0.02~0.2重量%である。

【0007】他の免疫賦活物質としては、乳酸菌、その処理物および3-O- α -D-グルコピラノシル-D-グルコースを構成単位として含有する糖類からなる群から選択される1種以上の免疫賦活物質である。乳酸菌としては、とりわけ、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属に属する菌、例えば、ラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) があげられ、具体的には、ラクトバチルス・プランタラム L-137 株 (*Lactobacillus plantarum* L-137) (平成7年11月30日より、受託番号 FERM P-15317 の下、工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託してある) が好適に使用できる。乳酸菌の処理物としては、本発明において用いる菌により食品を発酵させてなる、菌体を含んだ発酵物をそのまま用いてもよいし、発酵物から菌体を取り出し、生菌のまま、または、例えば、加熱、紫外線照射等により不活性化し、ペースト状態あるいは乾燥して用いることもできる。分離した生菌体、死菌体をさらに摩砕、破碎、酵素分解、抽出処理をし、得られた処理物を必要により加熱滅菌、乾燥して用いることもできる。これらの配合量も適宜選択できるが、経口剤の場合、吸収率を考慮して、成人1日当り、乾燥菌体として0.2mg~1g、好ましくは、1mg~500mg、さらに好ましくは、5mg~200mg 摂取されるよう設定するのが望ましい。すなわち、通常、その製剤への配合量は、1日摂取量の目安が4gの錠剤の場合、製剤に対して乾燥菌体として、0.005~25重量%、好ましくは、0.025~12.5重量%、さらに好ましくは、0.125~5重量%であり、50ml程度のドリンク剤の場合、製剤に対して乾燥菌体として、0.0004~2重量%、好ましくは、0.002~1重量%、さらに好ましくは、0.01~0.4重量%であり、500ml程度の飲料の場合、製剤に対して乾燥菌体として、0.00004~0.2重量%、好ましくは、0.0002~0.1重量%、さらに好ましくは、0.001~0.04重量%である。また、注射剤、輸液剤の場合は、乾燥菌体として、成人1日当り、0.004mg~50mg、好ましくは、0.02mg~25mg、さらに好ましくは、0.1mg~10mg 投与されるよう設定するのが望ましい。すなわち、通常、5ml程度の注射剤の場合、製剤に対して乾燥菌体として、0.00008~1重量%、好ましくは、0.0004~0.5重量%、さらに好ましくは、0.002~0.2重量%であり、500ml程度の輸液剤の場合、製剤に対して乾

燥菌体として、0.0000008~0.01重量%、好ましくは、0.000004~0.005重量%、さらに好ましくは、0.00002~0.002重量%である。

【0008】3-O- α -D-グルコピラノシル-D-グルコースを構成単位として含有する糖類としては、例えば、ニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースおよびこれらのニゲロオリゴ糖の混合物が挙げられる。これらの配合量も適宜選択できるが、経口剤の場合、吸収率を考慮して、ニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として、成人1日当り、4mg~40g、好ましくは、10mg~10g、さらに好ましくは、50mg~5g 摂取されるよう設定するのが望ましい。すなわち、通常、その製剤への配合量は、1日摂取量の目安が4gの錠剤の場合、製剤に対してニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として、0.1~95重量%、好ましくは、0.25~95重量%、さらに好ましくは、1.25~95重量%であり、50ml程度のドリンク剤の場合、製剤に対してニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として、0.008~40重量%、好ましくは、0.02~20重量%、さらに好ましくは、0.1~10重量%であり、500ml程度の飲料の場合、製剤に対してニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として、0.0008~8重量%、好ましくは、0.002~2重量%、さらに好ましくは、0.01~1重量%である。また、注射剤、輸液剤の場合はニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として、成人1日当り、0.4mg~4g、好ましくは、1mg~1g、さらに好ましくは、5mg~500mg 投与されるよう設定するのが望ましい。すなわち、通常、5ml程度の注射剤の場合、製剤に対してニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として、0.008~20重量%、好ましくは、0.02~20重量%、さらに好ましくは、0.1~10重量%であり、500ml程度の輸液剤の場合、製剤に対してニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として、0.00008~0.8重量%、好ましくは、0.0002~0.2重量%、さらに好ましくは、0.001~0.1重量%である。本発明においては、アスコルビン酸と上記の乳酸菌および3-O- α -D-グルコピラノシル-D-グルコースを構成単位として含有する糖類とを併用してもよく、その場合の配合量も適宜選択することができるが、通常、1日摂取量の目安が4gの錠剤の場合、製剤に対して遊離のアスコルビン酸として、0.125~50重量%、好ましくは、

0.675~50重量%、さらに好ましくは、2.5~25重量%であり、乳酸菌の乾燥菌体として、0.0025~12.5重量%、好ましくは、0.0125~6.75重量%、さらに好ましくは、0.0675~2.5重量%であり、ニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として、0.05~50重量%、好ましくは、0.125~50重量%、さらに好ましくは、0.675~50重量%である。50ml程度のドリンク剤の場合、製剤に対して遊離のアスコルビン酸として、0.01~10重量%、好ましくは、0.05~5重量%、さらに好ましくは、0.2~2重量%であり、乳酸菌の乾燥菌体として、0.0002~1重量%、好ましくは、0.001~0.5重量%、さらに好ましくは、0.005~0.2重量%であり、ニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として、0.004~20重量%、好ましくは、0.01~10重量%、さらに好ましくは、0.05~5重量%である。500ml程度の飲料の場合、製剤に対して遊離のアスコルビン酸として、0.001~1重量%、好ましくは、0.005~0.5重量%、さらに好ましくは、0.02~0.2重量%であり、乳酸菌の乾燥菌体として、0.00002~0.1重量%、好ましくは、0.0001~0.05重量%、さらに好ましくは、0.0005~0.02重量%であり、ニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として、0.0004~4重量%、好ましくは、0.001~1重量%、さらに好ましくは、0.005~0.5重量%である。5ml程度の注射剤の場合、製剤に対して遊離のアスコルビン酸として、0.05~5重量%、好ましくは、0.25~5重量%、さらに好ましくは、1~5重量%であり、乳酸菌の乾燥菌体として0.00004~0.5重量%、好ましくは、0.0002~0.25重量%、さらに好ましくは、0.001~0.1重量%であり、ニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として、0.004~10重量%、好ましくは、0.01~10重量%、さらに好ましくは、0.05~5重量%である。500ml程度の輸液剤の場合、製剤に対して遊離のアスコルビン酸として、0.0005~0.5重量%、好ましくは、0.0025~0.25重量%、さらに好ましくは、0.01~0.1重量%であり、乳酸菌の乾燥菌体として、0.000004~0.005重量%、好ましくは、0.000002~0.0025重量%、さらに好ましくは0.00001~0.001重量%であり、ニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなるニゲロオリゴ糖混合物として0.00004~0.4重量%、好ましくは、0.0001~0.1重量%、さらに好ましくは、0.0005~0.05重量%であ

る。

【0009】本発明の製剤は、公知の賦形剤ないしは担体を用い、自体公知の方法に従い、例えば、経口、非経口、外用等の経路で適用できる、例えば、錠剤、顆粒、カプセル入り、粉末、クリーム、ペーストのような固体または溶液、シロップ、乳液、懸濁液のような液体の剤形の医薬品、医薬部外品、食品または化粧品用製剤とすることができる。用いる賦形剤ないしは担体としては、例えば、デキストリン、コーンスターチ、乳糖、セルロース、メチルセルロースのような固体賦形剤、水、生理食塩水、プロピレングリコール、エタノールのような液体賦形剤が挙げられる。

【0010】本発明の製剤は、経口、非経口、外用等で適用することにより、相乗的に増強された免疫賦活作用から、ウイルス、バクテリア等の微生物による感染症、例えば、経口感染によるコレラ菌、毒素原性大腸菌、赤痢菌、サルモネラ菌、ウイルス等の感染性腸炎や、気道感染によるインフルエンザ、かぜ症候群等や、口腔内感染による口内炎、歯周疾患等、また、各種悪性腫瘍、例えば、消化管や呼吸器粘膜、肝・腎等の実質臓器に発生する上皮性悪性腫瘍や、運動器や軟部組織等に発生する非上皮性悪性腫瘍の予防や治療に有効である。また、本発明の製剤はIL-12および/またはIFN- γ 産生誘導作用を有し、Tヘルパー機能をTh1型に傾けるために、腫瘍により誘導される免疫抑制状態や抗癌剤治療により誘導される免疫機能低下からの回復に適しており、後天性免疫不全症候群(AIDS)の発症予防にも有効であり、リステリア菌、サルモネラ菌、結核菌、癩菌等の細胞内寄生性細菌に対しても有効であり、I型アレルギーの予防や治療に有効であり、ストレスに起因するTh1型免疫機能低下の改善に有効であり、加齢に伴う免疫機能低下の抑制等にも適しており、また、細胞内寄生性細菌のクラミジア菌に対する感染防御作用により、クラミジア菌感染との関わりが強く示唆されている動脈硬化発症に対しても予防的にはたらくなど、種々の生体機能調節、各種疾患に対する抵抗性の向上、日常の保健強壯の促進に有効である。

【0011】

【実施例】以下に試験例および実施例を挙げて、本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

試験例1

本試験例では、ラクトバチルス・プラントラムL-137乾燥死菌体とアスコルビン酸を用いて、マウス脾臓細胞のインターロイキン12およびインターフェロン γ 産生誘導に対するラクトバチルス・プラントラムL-137乾燥死菌体とアスコルビン酸の相乗効果を検証した。マウス(BALB/c、雌、22週齢)から脾臓を摘出し、RPMI1640培地中で押し潰し、#200メッシュに通し脾臓細胞浮遊液を得た。脾臓細胞浮遊液の細

胞数を自動血球計測装置で測定した後、細胞数を $5 \times 10^4/\text{ml}$ の濃度にRPMI 1640培地で調製し、96穴組織培養プレートに1穴あたり $100 \mu\text{l}$ を播種した。これにラクトバチルス・プランタラムL-137乾燥死菌体を $0.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でRPMI 1640培地に分散させた液またはRPMI 1640培地をそれぞれ1穴あたり $50 \mu\text{l}$ 加えた。さらに、RPMI 1640培地(対照)またはアスコルビン酸を20、40または $80 \mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度でRPMI 1640培地に溶解した液をそれぞれ1穴あたり $50 \mu\text{l}$ 加え、 37°C の5%炭酸ガス培養器内で7日間培養し、培養後の培養上清のインターロイキン12およびインターフェロン γ をエンザイムイムノアッセイで測定した。エンザイムイムノアッセイは、ラット抗マウスインターロイキン12 IgG2a抗体(Genzyme社製)またはハムスター抗マウスインターフェロン γ 抗体(Genzyme社製)をホウ酸緩衝液で $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ に調製した溶液を、96穴組織培養プレート1穴あたり $100 \mu\text{l}$ 加え 37°C で1夜放置しラット抗マウスインターロイキン12 IgG2a抗体またはハムスター抗マウスインターフェロン γ 抗体を各穴に付着させたプレートを用いて行った。培養上清を1穴あたり $50 \mu\text{l}$ 加え室温で90分間放置し、培養上清のイ

ンターロイキン12またはインターフェロン γ をプレートに付着したラット抗マウスインターロイキン12 IgG2a抗体またはハムスター抗マウスインターフェロン γ 抗体と結合させた。洗浄後、ラット抗マウスインターロイキン12 IgG1抗体(Genzyme社製)またはラット抗マウスインターフェロン γ IgG1抗体(Upstate Biotechnology社製)を加え、プレートに結合させたインターロイキン12またはインターフェロン γ に結合させた。洗浄後ペルオキシダーゼで標識した抗ラットIgG1抗体を加え、プレートに結合させたラット抗マウスインターロイキン12 IgG1抗体またはラット抗マウスインターフェロン γ IgG1抗体に結合させた。洗浄後、過酸化水素0.006%とオルトフェニレンジアミン0.1%を含有するリン酸緩衝液を1穴あたり $100 \mu\text{l}$ 加え、室温で40分間反応させ、反応を1.5N硫酸で停止し、マイクロプレートリーダーで吸光度492nmを測定し、リコンビナントマウスインターロイキン12またはインターフェロン γ で作成した標準曲線から、培養上清中のインターロイキン12またはインターフェロン γ の濃度を求めた。表1にその結果を示す。

【0012】

【表1】

	アスコルビン酸(終濃度 $\mu\text{g}/\text{ml}$)			
	0	5	10	20
インターロイキン12 (ng/ml)				
RPMI 1640	0.44 ± 0.08	0.49 ± 0.06	0.40 ± 0.05	0.39 ± 0.03
L-137(100ng/ml)	2.93 ± 0.14	3.03 ± 0.14	$3.27 \pm 0.27^*$	2.87 ± 0.10
インターフェロン γ (ng/ml)				
RPMI 1640	0.69 ± 0.62	0.78 ± 0.68	0.69 ± 0.44	0.40 ± 0.35
L-137(100ng/ml)	3.39 ± 1.26	4.88 ± 2.77	$7.18 \pm 2.57^*$	$11.02 \pm 5.44^*$

例数3~6の平均値±標準偏差。*;アスコルビン酸 $0 \mu\text{g}/\text{ml}$ に対して有意差あり。

【0013】表1から明らかなごとく、アスコルビン酸単独ではインターロイキン12並びにインターフェロン γ の産生を誘導しなかったが、ラクトバチルス・プランタラムL-137乾燥死菌体で誘導されたインターロイキン12およびインターフェロン γ の産生をアスコルビン酸は有意に上昇させた。インターロイキン12およびインターフェロン γ 産生誘導におけるラクトバチルス・プランタラムL-137乾燥死菌体とアスコルビン酸の相乗効果が検証された。

【0014】試験例2

本試験例では、ラクトバチルス・プランタラムL-137乾燥死菌体とニゲロオリゴ糖とアスコルビン酸を用いて、マウス脾臓細胞のインターロイキン12およびインターフェロン γ 産生誘導に対するラクトバチルス・プランタラムL-137乾燥死菌体とニゲロオリゴ糖(ニゲロース、ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトース

からなるニゲロオリゴ糖の混合物)とアスコルビン酸の相乗効果を検証した。マウス(BALB/c、雌、22週齢)から脾臓を摘出し、RPMI 1640培地中で押し潰し、#200メッシュに通し脾臓細胞浮遊液を得た。脾臓細胞浮遊液の細胞数を自動血球計測装置で測定した後、細胞数を $10 \times 10^4/\text{ml}$ の濃度にRPMI 1640培地で調製し、96穴組織培養プレートに1穴あたり $50 \mu\text{l}$ を播種した。これにラクトバチルス・プランタラムL-137乾燥死菌体を $0.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で分散させ、ニゲロオリゴ糖を $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度で溶解したRPMI 1640培地をそれぞれ1穴あたり $50 \mu\text{l}$ 加えた。さらに、RPMI 1640培地(対照)またはアスコルビン酸を20、40、80または $160 \mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度でRPMI 1640培地に溶解した液をそれぞれ1穴あたり $50 \mu\text{l}$ 加え、 37°C の5%炭酸ガス培養器内で7日間培養し、培養後の培養上清のインタ

ーロイキン12およびインターフェロン γ をエンザイム
イムノアッセイで測定した。表2にその結果を示す。

【0015】

【表2】

アスコルビン酸	0	5	10	20	40
(終濃度 $\mu\text{g/ml}$)					
インターロイキ ン12(ng/ml)	2.99 \pm 0.14	3.23 \pm 0.10*	3.45 \pm 0.20*	3.31 \pm 0.35	2.82 \pm 0
インターフェロ ン γ (ng/ml)	5.27 \pm 0.84	6.50 \pm 4.35	4.80 \pm 1.30	7.46 \pm 2.83	9.93 \pm
					4.51*

例数3~6の平均値 \pm 標準偏差。*;アスコルビン酸0 $\mu\text{g/ml}$ に対して有意差あり。

【0016】表2から明らかなごとくラクトバチルス・
プランタラムL-137乾燥死菌体とニゲロオリゴ糖か
らなる組成物で誘導されたインターロイキン12および
インターフェロン γ の産生をアスコルビン酸は有意に上
昇させた。インターロイキン12およびインターフェロ
ン γ 産生誘導におけるラクトバチルス・プランタラムL
-137乾燥死菌体とニゲロオリゴ糖とアスコルビン酸
の相乗効果が検証された。

【0017】実施例1

アスコルビン酸、ニゲロースおよび乳酸菌配合の清涼飲

成 分	量
ニゲロース	15.0g
アスコルビン酸	10.0g
ラクトバチルス・プランタラムL-137乾燥菌体	0.2g
レモン果汁	9.4g
グラニュー糖	15.4g
果糖ブドウ糖液糖	74.0g
精製ハチミツ	22.2g
クエン酸	1.5g
レモンフレーバー	1.6g

【0018】実施例2

アスコルビン酸および乳酸菌配合の顆粒剤

成 分	量
アスコルビン酸	60g
ラクトバチルス・プランタラムL-137乾燥菌体	1g
乳糖	150g
結晶セルロース	15g
ブドウ糖	71g

【0019】実施例3

アスコルビン酸および乳酸菌配合の錠剤

実施例2で得られた顆粒剤99gにステアリン酸カルシ
ウム1gを混合し、打錠機で圧縮整形して900mgの
錠剤を得た。得られた錠剤は一錠あたり、アスコルビン
酸を約180mg、ラクトバチルス・プランタラムL-
137菌体を約3mg含有する。

【0020】実施例4

アスコルビン酸、乳酸菌およびニゲロオリゴ糖配合の注
射剤

アスコルビン酸10g、ニゲロオリゴ糖（ニゲロース、

料水

下記配合に従い、ニゲロース、ラクトバチルス・プラン
タラムL-137乾燥菌体、レモン果汁、グラニュー
糖、果糖ブドウ糖液糖、精製ハチミツ、アスコルビン
酸、クエン酸、レモンフレーバーに純水を500ml加
え攪拌後、10分間超音波処理し懸濁溶解させ、100
0mlに調整した後、65℃で10分間殺菌して清涼飲
料水を得た。得られた清涼飲料水はニゲロースを約1.
5%、アスコルビン酸を1%、ラクトバチルス・プラン
タラムL-137菌体を約0.02%含有する。

下記配合に従い、各成分を均一に混合し、造粒破碎後、
乾燥して顆粒剤とした。

40 ニゲロシルグルコース、ニゲロシルマルトースからなる
ニゲロオリゴ糖の混合物)2g、ラクトバチルス・プラン
タラムL-137乾燥菌体0.05gを精製水100
0mlに懸濁させ、超音波処理した後、凍結乾燥した。
この凍結乾燥物を500本のバイアル瓶に分注して注射
剤を得た。この注射剤1バイアルには凍結乾燥物24.
1mgが含まれており、2mlの生理食塩水に容易に懸
濁溶解した。

【0021】実施例5

アスコルビン酸、乳酸菌およびニゲロオリゴ糖配合のカ
プセル剤

11

12

下記の配合に従い、各成分を均一に混合し、ゼラチンカプセルに充填し、カプセル1個あたり、ニゲロオリゴ糖を100mg、アスコルビン酸50mg、ラクトバチル

ス・プランタラムL-137菌体を3mg含有するカプセル剤を得た。

成 分	量
ニゲロオリゴ糖	100mg
アスコルビン酸	50mg
ラクトバチルス・プランタラムL-137乾燥菌体	3mg
コーンスターチ	30mg
ステアリン酸マグネシウム	10mg

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P	37/02	A 6 1 P	37/02
	37/04		37/04
// C 0 7 H	3/04	C 0 7 H	3/04
	3/06		3/06
(72) 発明者	山本 佳弘	Fターム (参考)	4C057 BB03 BB04
	兵庫県伊丹市荻野8丁目21番地の2-203号		4C084 AA19 CA04 MA52 NA05 ZB011
			ZB031 ZB091 ZC211 ZC611
			ZC751
			4C086 AA01 AA02 BA18 EA01 GA17
			MA02 MA04 MA52 NA05 ZB01
			ZB03 ZB09 ZC21 ZC61 ZC75
			4C087 AA01 AA02 BC56 MA02 MA52
			NA05 ZB01 ZB03 ZB09 ZC21
			ZC41 ZC61 ZC75